

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**(11)Publication number : **03-193731**(43)Date of publication of application : **23.08.1991**

(51)Int.Cl.

**A61K 31/22****A61K 37/02**(21)Application number : **01-332870**(71)Applicant : **KOKEN KK**(22)Date of filing : **25.12.1989**(72)Inventor : **IJIMA KUNIHITO  
KATO HARUKI  
NAGANUSHI YOUICHIROU****(54) INHIBITOR OF TUMOR CELL PROLIFERATION****(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To safely obtain a tumor cell proliferation inhibitor free from side effects, comprising a low condensate and polymer of an  $\alpha$ -hydroxy acid, a specific oligopeptide and stabilizer.

**CONSTITUTION:** A tumor cell proliferation inhibitor comprising (A) a low condensate and a polymer of an  $\alpha$ -hydroxy acid such as a compound prepared by condensing 2-10 molecules of the  $\alpha$ -hydroxy acid and polymerizing the  $\alpha$ -hydroxy acid and a metallic salt thereof, (B) an oligopeptide (e.g. oligopeptide composed of 2-8 residues of amino acid) containing at least one pyroglutamic acid and (C) a stabilizer such as a saccharide or sugaralcohol in a constituent ratio of the component A:B:C=10:1-4:1-3.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第2997488号

(P2997488)

(45)発行日 平成12年1月11日(2000.1.11)

(24)登録日 平成11年10月29日(1999.10.29)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 35/00

31/00

6 3 5

A 6 1 K 31/22

31/22

請求項の数4(全 4 頁)

(21)出願番号 特願平1-332870

(22)出願日 平成1年12月25日(1989.12.25)

(65)公開番号 特開平3-193731

(43)公開日 平成3年8月23日(1991.8.23)

審査請求日 平成8年10月14日(1996.10.14)

(73)特許権者 999999999

興研株式会社

東京都千代田区四番町7番地

(72)発明者 飯島 邦仁

東京都練馬区下石神井6-13-11-105

(72)発明者 加藤 陽樹

埼玉県飯能市大河原140-1

(72)発明者 長主 陽一郎

神奈川県大和市中央3丁目9番4号

(74)代理人 999999999

弁理士 竹本 松司 (外2名)

審査官 森井 隆信

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, D B名)

A61K 31/22, 38/03

CA (STN)

MEDLINE (STN)

(54)【発明の名称】 腫瘍細胞増殖抑制剤

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 $\alpha$ -ヒドロキシ酸の2~10分子縮合及び重合した低縮合物及び重合物及びピログルタミン酸を少なくとも1残基含むオリゴペプチドよりなる腫瘍細胞増殖抑制剤。

【請求項2】請求項(1)において、 $\alpha$ -ヒドロキシ酸の低縮合及び重合物が金属塩よりなる腫瘍細胞増殖抑制剤。

【請求項3】請求項(1)において、ピログルタミン酸を少なくとも1残基含むオリゴペプチドが2~8残基のアミノ酸から成るオリゴペプチドで、ピログルタミン酸が少なくとも1残基含まれる化合物及びその金属塩よりなる腫瘍細胞増殖抑制剤。

【請求項4】請求項(1)において、その重量構成成分比が $\alpha$ -ヒドロキシ酸の低縮合物及び重合物・・・10、

2

ピログルタミン酸を少なくとも1残基含むオリゴペプチド・・・1~4である腫瘍細胞増殖抑制剤。

【発明の詳細な説明】

産業上の利用分野

本発明は、人を含む動物の腫瘍細胞増殖抑制剤に関する。

従来の技術

抗癌剤の開発研究は、世界的規模で精力的に行われているにもかかわらず、現在使用されているものは、有効で副作用がなく、安心して使用できるものは皆無である。また、物理的療法にも負荷の少なく有効な特筆できる方法がない現状から一日も早く満足できる抗癌剤の開発が望まれている。

発明が解決すべき課題

本発明は、正常細胞を用いた毒性試験において、その

増殖には全く影響せず、ヌードマウスに移植した悪性腫瘍細胞の増殖抑制実験においては、投与開始数日で増殖が停止し、その後の投与なしにもかかわらず腫瘍が有意に縮小化し、また、皮下投与によって安定に有効性を示し、生体において安定な持続性をもつ腫瘍細胞増殖抑制剤を提供することを目的とするものである。

課題を解決するための手段

本発明の腫瘍細胞増殖抑制剤は $\alpha$ -ヒドロキシ酸の2～10分子縮合及び重合した低縮合物及び重合物及び、ピログルタミン酸を少なくとも1残基を含むオリゴペプチドよりなる。

また、前記 $\alpha$ -ヒドロキシ酸の低縮合及び重合物は、金属塩よりなるものでもよい。

さらに、前記ピログルタミン酸を少なくとも1残基を含むオリゴペプチドは、2～8残基のアミノ酸からなるオリゴペプチドで、ピログルタミン酸が少なくとも1残基含まれる化合物及びその金属塩よりなるものである。

そして、その重量構成成分比は、 $\alpha$ -ヒドロキシ酸の低縮合物及び重合物・・・10、ピログルタミン酸を少なくとも1残基含むオリゴペプチド・・・1～4よりなるものである。

#### 実施例 1

乳酸オリゴマー（ $\alpha$ -ヒドロキシプロピオン酸の低縮合物及び重合物）の製法

乳酸（ $\alpha$ -ヒドロキシプロピオン酸）は化学反応性が大きく140℃で100分間加熱すると固化する。これを水に溶かしアルカリ性にしたと沈殿が生成し、酸性にしても容易に溶けない。175℃で2時間加熱すると水には溶けず、メタノールに溶ける物質になる。ここで必要なのは水溶性で安定であることで、その条件を満たす製法を以

下に記す。

(1) L-乳酸50mlに6N-塩酸0.7mlを加え、2時間還流するか120℃～160℃で100分加熱する。

(2) L-乳酸50mlにNaHCO<sub>3</sub> 0.5gを溶かし、これにトルエン150mlを加え140℃～160℃で2時間加熱する。

(3) L-乳酸50mlに乳酸ナトリウム2ml及びベンゼン100mlを加え140℃で3～6時間加熱する。

(4) L-乳酸50mlにMgCl<sub>2</sub>（またはCaCl<sub>2</sub>）0.2g及びトルエン150mlを加え2～4時間還流する。

以上の方法により $\alpha$ -ヒドロキシプロピオン酸の分子縮合及び重合した化合物を得る。

#### 実施例 2

以上の実施例に記載された $\alpha$ -ヒドロキシプロピオン酸の低縮合物及び重合物とピログルタミン酸を少なくとも1残基含むオリゴペプチドと糖または糖アルコールよりなる安定化剤とを夫々10:1～4:1～3の重量比で混合し、さらに $\alpha$ -ヒドロキシプロピオン酸の金属塩を少量加えて腫瘍細胞増殖抑制剤を作製する。

#### 実験結果

##### 実験 1

##### 急性毒性試験

皮膚線維芽細胞1×10<sup>5</sup>個を植え込んだ15mm径のプラスチック24穴マルチプレートに、10%牛胎児血清を添加した市販合成培地イーグルMEM990 $\mu$ に各種投与量を含む抑制剤10 $\mu$ を加えたものを培地として加え、37℃で72時間、CO<sub>2</sub>雰囲気中で培養後、メチレンブルー色素の細胞への取り組み量を波長620nmにおける吸光度で測定した。

その時の吸光度より生存率を算出し、生存率と抑制剤の投与量の関係を次表及び図に示す。

抑制剤投与量 (mg)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
生存率 (%)	99.9	99.0	98.5	98.0	97.4	96.2

#### 実験 2

##### 悪性腫瘍細胞増殖抑制実験

(A) 方法：ヌードマウス（ICR NU/NU♀5週令）の背側部皮下に子宮頸癌由来株化細胞He laS-3細胞1×10<sup>7</sup>個を移植し、移植後5日目より、実験群には抑制剤を20mg/0.5ml H<sub>2</sub>Oを1日1回計10回連続投与し、対照群

には生理的食塩水0.5mlを同様に投与した。その後、投与を停止し移植後7週間目に腫瘍を取り出し秤量した。

投与量：20mg/0.5ml H<sub>2</sub>O/1回

投与方法：皮下投与（SC）

結果：対照群と実験群ともに5例の腫瘍重量を以下に示す。

5

6

N o	対 照 群 ( g )	実 験 群 ( g )
1	3. 2 5	0. 2 5
2	3. 1 5	0. 6 3
3	4. 1 3	0. 5 4
4	3. 4 6	0. 6 2
5	3. 2 7	0. 6 4
$\Sigma x$	1 7. 2 6	2. 6 8
$\bar{x}_1$	3. 4 5 <sub>2</sub>	0. 5 3 <sub>8</sub>

抑制率 84. 5%

抑制率は、

$$\left(1 - \frac{\text{実験群の腫瘍重量 (g)}}{\text{対照群の腫瘍重量 (g)}}\right) \times 100$$

として求めた。

与した場合の対照群と実験群各5例の腫瘍重量を示す。

(B) (A) と同一方法で投与回数を1日2回計20回投

N o	対 照 群 ( g )	実 験 群 ( g )
1	3. 4 1	0. 2 6
2	3. 2 6	0. 3 1
3	4. 3 8	0. 4 1
4	3. 8 1	0. 3 7
5	4. 2 0	0. 2 9
$\Sigma x$	1 9. 0 6	1. 0 0
$\bar{x}$	3. 8 2 <sub>1</sub>	0. 3 2 <sub>6</sub>

抑制率 91. 4%

(C) 方 法：ヒト胃癌由来樹立株細胞MKN-1細胞を用いて (A) と同様な実験を行なった。

結 果：対照群と実験群各5例の腫瘍重量を示す。

N o	対 照 群 ( g )	実 験 群 ( g )
1	5 . 0 4	0 . 7 3
2	4 . 4 1	0 . 5 5
3	5 . 6 7	0 . 8 1
4	4 . 9 0	0 . 6 9
5	4 . 9 3	0 . 6 7
$\Sigma x$	2 4 . 9 5	3 . 4 5
$\bar{x}$	4 . 9 9	0 . 6 9

抑制率 86.2%

#### 発明の効果

本発明の腫瘍細胞増殖抑制剤は、生体既存物質の低分子誘導体であって、正常細胞を用いた毒性試験において、その増殖には全く影響しない。さらにヌードマウスに移殖した悪性腫瘍細胞の増殖抑制実験においては、投与開始数日で増殖が停止し、その後の投与なしにもかかわらず腫瘍は有意に縮小化した。また、本剤は皮下投与

によって安定的に有効性を示すことから、生体において安定な持続性をもつ物質である。従って、動物実験の過程において何ら副作用も観察されず、本剤は、有効かつ安心して使用可能な抗癌剤として適したものである。

#### 【図面の簡単な説明】

図は本発明の腫瘍細胞増殖抑制剤の投与量に対する生存率の関係を示す線図である。

